

USO PREVISTO

El sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte® ANA-II Plus** de ZEUS está diseñado para la detección semicuantitativa de anticuerpos de tipo IgG en ocho analitos diferentes (SSA, SSB, Sm, RNP, Scl-70, Jo-1, centrómero B e histona) en suero humano, la detección cuantitativa de anticuerpos de tipo IgG en ADNcd en suero humano, y la detección cualitativa de anticuerpos de tipo IgG en ANA. El sistema de pruebas está diseñado para ser utilizado como ayuda en el diagnóstico de varios trastornos autoinmunes sistémicos. Esta prueba es para uso diagnóstico *in vitro*.

IMPORTANCIA Y ASPECTOS GENERALES

Normalmente, no se generan anticuerpos para los propios antígenos. Una función clave del sistema inmunitario es distinguir los antígenos extraños (como aquellos que provienen de agentes infecciosos) de los propios tejidos. Los trastornos inmunológicos se producen cuando el sistema inmunitario genera anticuerpos potencialmente destructivos para los propios antígenos (autoanticuerpos). La mayor parte de los trastornos autoinmunes pueden clasificarse como no específicos de los órganos (sistémicos) o específicos de los órganos.

En las enfermedades autoinmunes sistémicas o no específicas de los órganos, se produce inflamación o daños en varias partes del tejido de los órganos, sin relación con la composición de sus antígenos y, por lo general, se inicia por el depósito de complejos inmunes circulantes en el tejido. Estos complejos inmunes están formados por respuestas de autoanticuerpos a antígenos celulares solubles de origen nuclear o, con menos frecuencia, citoplasmático. Algunos de los ejemplos más comunes de trastorno autoinmune sistémico son el lupus eritematoso sistémico (LES), la artritis reumatoide, la esclerodermia (y CREST), la polimiositis, la enfermedad mixta del tejido conectivo (EMTC), el LES provocado por medicamentos y el síndrome de Sjögren.

El sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte ANA-II Plus** de ZEUS está diseñado para ayudar en el diagnóstico de muchos de los trastornos autoinmunes sistémicos. Puede ayudar a detectar e identificar muchos autoanticuerpos en un número de componentes celulares nucleares y citoplasmáticos. La siguiente tabla muestra la relación entre los autoanticuerpos y el estado de la enfermedad en algunos de los trastornos autoinmunes sistémicos más comunes.

Anticuerpo	Asociado a la enfermedad:
SSA	LES, síndrome de Sjögrens
SSB	Síndrome de Sjögrens
Sm	LES
RNP	Enfermedad mixta del tejido conectivo (EMTC)
Scl-70	Esclerodermia
Jo-1	Miositis
Centrómero B	Esclerodermia variante CREST (calcinosis), fenómeno de Raynaud, dismotilidad esofágica, esclerodactilia y telangiectasia.
Histonas	LES provocado por medicamentos
ADNcd	LES

Aunque se desconoce la etiología exacta de las enfermedades autoinmunes, y no está claro el papel específico que desempeñan los autoanticuerpos en el inicio de varias enfermedades autoinmunes, la asociación y frecuencia de detección de estos anticuerpos, particularmente aquellos del tipo IgG, con el sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte ANA-II Plus** de ZEUS ofrece un procedimiento de prueba eficiente para la evaluación en el laboratorio de pacientes con sospecha de diversas enfermedades autoinmunes sistémicas.

Hasta hace poco, los autoanticuerpos se analizaban individualmente mediante inmunofluorescencia indirecta, difusión en gel de Ouchterlony, hemaglutinación, radioinmunoensayo, o ensayo inmunoabsorbente ligado a la enzima (ELISA). A diferencia de muchos otros sistemas, el sistema **AtheNA Multi-Lyte** es capaz de evaluar varios analitos diferentes a la vez en un formato de inmunoensayo multiplexado. Cuando se usa conforme a las siguientes instrucciones, es posible evaluar a la vez en un único pocillo la presencia de multitud de autoantígenos en la muestra de un paciente.

FUNDAMENTO DE LA PRUEBA

El sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte ANA-II Plus** de ZEUS está diseñado para detectar anticuerpos de la clase IgG en suero humano para un gran número de antígenos nucleares comunes. El procedimiento de prueba comporta dos pasos de incubación:

- Los sueros de prueba (diluidos correctamente) se incuban en una mezcla multiplexada de la suspensión de microesferas. La suspensión de microesferas contiene una mezcla de conjuntos distinguibles de microesferas de poliestireno; cada conjunto conjugado con un antígeno diferente. Si está presente en los sueros del paciente, determinados anticuerpos se unirán con el antígeno inmovilizado en uno o más conjuntos de microesferas. Las microesferas se enjuagan para extraer las proteínas séricas no reactivas.
- Se agrega anti-IgG humana de cabra conjugada con ficoeritrina al recipiente y se incuban la placa. El conjugado reaccionará con el anticuerpo de tipo IgG inmovilizado en la fase sólida del paso 1. La suspensión de microesferas se analiza después con el instrumento **AtheNA Multi-Lyte**. El conjunto o conjunto de microesferas se clasifican (identifican) y la cantidad de molécula informante (conjugado PE) se determina para cada conjunto de microesferas. Con la *Intra-Well Calibration Technology®* (tecnología de calibración dentro del pocillo), se utilizan conjuntos de microesferas de calibración para convertir fluorescencia sin procesar en resultado (unidades).

COMPONENTES DEL SISTEMA DE PRUEBAS

Materiales suministrados:

Cada sistema de pruebas contiene los siguientes componentes en cantidad suficiente para realizar el número de pruebas indicado en la etiqueta del envase. **NOTA: los siguientes componentes contienen como conservante azida de sodio a una concentración de <0,1% (p/v): suspensión de microesferas, controles, conjugado y SAVE Diluent®.**

SOLN	BEAD	1. Suspensión de microesferas: contiene microesferas de poliestireno de 5,6 micras separadas y distinguibles que se conjugan con los siguientes autoantígenos: SSA, SSB, Sm, U snRNP B/B', U1 snRNP 68, U1 snRNP A, U1 snRNP C, Scl-70, Jo-1, centrómero B, ADNcd, histona H e histona HLY. Se incluye un conjunto de microesferas adicional que contiene una preparación de antígeno derivada de las células HEp-2. Este conjunto de microesferas favorece la capacidad de detección del ensayo AtheNA Multi-Lyte ANA-II Plus de ZEUS. La suspensión de microesferas también contiene un conjunto de microesferas diseñadas para detectar anticuerpos no específicos en la muestra del paciente (si está presente) y cuatro conjuntos de microesferas separadas que se utilizan para la calibración del ensayo. Una botella ámbar que contiene 5,5 ml. Listo para usar.	
CONJ		2. Conjugado: anti-IgG humana (específica de la cadena γ) de cabra conjugada con ficoeritrina. Una botella ámbar que contiene 15 ml. Listo para usar.	
CONTROL	+	1	3. Control positivo 1 (suero humano): Un vial de 0,2 ml con tapón rojo.
CONTROL	+	2	4. Control positivo 2 (suero humano): Un vial de 0,2 ml con tapón blanco.
CONTROL	+	3	5. Control positivo 3 (suero humano): Un vial de 0,2 ml con tapón azul.
CONTROL	-		6. Control negativo (suero humano): Un vial de 0,2 ml con tapón verde.
DIL	SPE	7. Diluyente SAvE Diluent®: Una botella de 50 ml con tapón verde de solución salina tamponada con fosfato. Listo para usar. NOTA: El diluyente SAvE Diluent® cambiará de color cuando se combine con suero.	

WASHBUF	10X
---------	-----

8. Tampón de lavado concentrado (10X): diluir 1 parte del concentrado + 9 partes de agua desionizada o destilada. Una botella de 50 ml con tapón transparente de solución salina tamponada con fosfato concentrada 10x.

NOTAS:

- Los siguientes componentes no dependen del número de lote del sistema de pruebas y se pueden usar indistintamente con cualquier sistema de pruebas AtheNA Multi-Lyte de ZEUS: Tampón de lavado y diluyente SAVe Diluent®.
- El sistema de pruebas también contiene:
 - Una etiqueta de componentes que contiene información específica de lote dentro de la caja del sistema de pruebas.
 - CD de calibración que incluye los valores de calibración del kit específicos de los lotes y necesarios para el análisis de la muestra y el control de calidad del ensayo, así como el prospecto.
 - Una placa de disolución de 96 pocillos.
 - Una placa de filtro de 96 pocillos.

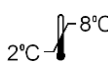
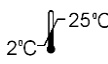
PRECAUCIONES

- Para uso diagnóstico *in vitro*.
- Se deben seguir las precauciones normales que se utilizan para manipular reactivos de laboratorio. En caso de contacto con los ojos, enjuague inmediatamente con abundante agua y busque asistencia médica. Utilice ropa de protección adecuada, guantes y protección para la cara/ojos. No respire los vapores. Respete todas las leyes locales, estatales y federales para la eliminación de residuos.
- La suspensión de microesferas del sistema de pruebas AtheNA Multi-Lyte de ZEUS no contiene organismos viables. No obstante, las tirillas deben considerarse como **materiales biológicos potencialmente peligrosos**, y deben manipularse como tal.
- Los controles son **material con potencial riesgo biológico**. Los materiales a partir de los cuales se obtuvieron estos productos resultaron negativos para el antígeno del VIH-1, el HBsAg y para anticuerpos contra el VHC y el VIH por métodos de prueba homologados. Sin embargo, dado que ningún método de prueba puede ofrecer una garantía total de que no hay agentes infecciosos, estos productos deberán manipularse con un Nivel de bioseguridad 2, tal como se recomienda para cualquier muestra de sangre o suero humano potencialmente infeccioso en el manual de Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos) de los Centros para el Control de Enfermedades / Institutos Nacionales de la Salud: última edición; y en la Norma de la OSHA sobre Patógenos que se transmiten en la sangre (1).
- Para lograr resultados precisos, es esencial cumplir estrictamente los tiempos y temperaturas de incubación especificados. Se debe dejar que todos los reactivos alcancen temperatura ambiente (20 - 25°C) antes de empezar el ensayo. Devuelva los reactivos no utilizados a una temperatura refrigerada inmediatamente después de su uso.
- Un lavado inadecuado podría ocasionar resultados de falsos positivos o falsos negativos. Debe reducirse al mínimo la cantidad de solución de lavado residual (p. ej., mediante secado o aspiración) antes de añadir el conjugado. No permita que los pocillos se sequen entre una incubación y la siguiente.
- El diluyente SAVe Diluent®, la suspensión de microesferas, los controles y el conjugado contienen azida sódica en una concentración de <0,1 % (p/v). Se ha informado que la azida sódica forma azidas de plomo o cobre en las cañerías del laboratorio, lo que puede ocasionar explosiones al golpear con un martillo. Para evitarlo, enjuague bien el lavabo con agua después de eliminar las soluciones que contengan azida de sodio.
- La solución concentrada del tampón de lavado es IRRITANTE. Irritante para los ojos, el sistema respiratorio y la piel.
- La dilución o adulteración de estos reactivos puede generar resultados erróneos.
- No utilice reactivos de otro origen o fabricante.
- Nunca pipetee con la boca. Evite el contacto de los reactivos y las muestras de pacientes con la piel y las membranas mucosas.
- Evite la contaminación microbiana de los reactivos. Esto puede ocasionar resultados incorrectos.
- La contaminación cruzada de reactivos y/o muestras podría ocasionar resultados erróneos.
- Evite salpicar o generar aerosoles.
- No exponga los reactivos a la luz intensa durante el almacenamiento o la incubación. La suspensión de microesferas y el conjugado son reactivos sensibles a la luz. Ambos se han embalado en envases que protegen de la luz. Las exposiciones normales que se experimentan durante el curso de la ejecución del ensayo no afectarán en rendimiento del ensayo. No exponga estos reactivos a fuentes potentes de luz visible de manera innecesaria.
- Recoja la solución de lavado en un lavabo de eliminación. Trate la solución de desecho con desinfectante (es decir: lejía de uso doméstico al 10 %, hipoclorito de sodio al 0,5 %). Evite la exposición de los reactivos a los vapores de la lejía.
- Precaución: neutralice cualquier desecho líquido con pH ácido antes de agregarlo a la solución de lejía.
- No permita que el conjugado entre en contacto con recipientes o instrumentos que hayan podido contener previamente una solución que utilice azida de sodio como conservante. Los residuos de azida de sodio pueden destruir la actividad enzimática del conjugado.
- No exponga ninguno de los reactivos a soluciones que contengan lejía o a ningún olor fuerte de soluciones que contengan lejía. Los restos de lejía (hipoclorito de sodio), incluso a nivel de trazas, pueden destruir la actividad biológica de muchos de los reactivos incluidos en este sistema de pruebas.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Pipetas capaces de dispensar con exactitud entre 10 y 200 µl.
- Pipeta multicanal capaz de dispensar con exactitud 10 - 200 µl.
- Depósitos de reactivos para pipetas multicanal.
- Pipetas serológicas.
- Puntas de pipetas descartables.
- Toallas de papel.
- Cronómetro de laboratorio para controlar los pasos de incubación.
- Recipiente para desechos y desinfectante (es decir: lejía de uso doméstico al 10 %, hipoclorito de sodio al 0,5 %).
- Sistema AtheNA Multi-Lyte (instrumento Luminex®) con tampón de lavado (número de producto 40-50035).
- Agua destilada o desionizada.
- Vórtex.
- Sonicador de baño pequeño.
- Agitador de placas capaz de agitar a una velocidad de 800 RPM (opcional para el mezclado).
- Aspirador de vacío y colector de vacío para lavar las microesferas.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO

	Suspensión de microesferas: extraiga solo la cantidad necesaria para analizar las muestras a las que se les va a realizar la prueba y devuelva la porción no utilizada a su almacenamiento.
	Conjugado: NO CONGELAR.
	Sistema de pruebas, controles positivos, control negativo y diluyente SAVe Diluent® sin abrir
	Tampón de lavado (1X): hasta 7 días entre 20 y 25 °C o durante 30 días entre 2 y 8 °C. Tampón de lavado (10X): 2 - 25°C

RECOGIDA DE LAS MUESTRAS

1. ZEUS Scientific recomienda que el usuario realice la recogida de muestras conforme al documento M29 del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI): Protection of Laboratory Workers from Infectious Disease (Protección de los trabajadores de laboratorio frente a las enfermedades infecciosas).
2. Ningún método de prueba puede ofrecer una garantía completa de que las muestras de sangre humana no transmitirán infecciones. Por lo tanto, todos los derivados de la sangre deben considerarse potencialmente infecciosos.
3. Con este ensayo solamente deben utilizarse sueros recién extraídos y debidamente refrigerados que se hayan obtenido mediante procedimientos homologados de venopunción aséptica (2, 3). No los utilice si se han agregado anticoagulantes o conservantes. Evite utilizar sueros hemolizados, lipémicos o contaminados con bacterias.
4. Almacene la muestra a temperatura ambiente durante un lapso no superior a las 8 horas. Si la prueba no se realiza dentro de las 8 horas, el suero puede almacenarse a entre 2 - 8° C, durante un lapso no superior a las 48 horas. Si tiene previsto retrasar la realización de la prueba, conserve los sueros de la prueba a -20° C o a temperaturas inferiores. Evite múltiples ciclos de congelación/descongelación que puedan ocasionar la pérdida de actividad de los anticuerpos y dar lugar a resultados erróneos. Es responsabilidad del propio laboratorio utilizar todas las referencias disponibles y/o sus propios estudios para determinar los criterios de estabilidad de su laboratorio (4).

PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA

1. Retire los componentes individuales del kit del lugar de almacenamiento y permita que alcancen la temperatura ambiente (20 - 25°C).
2. Determine el número total de controles y muestras que se desean probar. Es necesario incluir el control negativo y tres controles positivos con cada tanda de pruebas.

El control negativo debe probarse en el pocillo A1, el control positivo 1 en el pocillo B1, el control positivo 2 en el pocillo C1 y el control positivo 3 en el pocillo D1. Cada control y

y muestra necesita un micropocillo para su procesamiento.

- a. Para optimizar los tiempos de lectura, la suspensión de microesferas debe estar bien mezclada antes de su empleo. La manera más efectiva de volver a suspender las microesferas es en primer lugar utilizar el vórtex durante aproximadamente 30 segundos, y después sonicar durante aproximadamente 30 segundos en un sonicador de baño pequeño.
- b. Para obtener un rendimiento adecuado, es importante que el contenido del ensayo se mezcle detenidamente. Entre los medios adecuados de mezcla se incluye mezclar la placa en un agitador de placa durante aproximadamente 30 segundos a 800 RPM aproximadamente, o ajustar una pipeta en aproximadamente ½ del volumen en la placa y aspirar y expulsar repetidamente (bomba arriba y bomba abajo) el contenido del pocillo durante un mínimo de 5 ciclos.

EJEMPLO DE CONFIGURACIÓN DE LA PLACA		
	1	2
A	Control negativo	etc.
B	Control positivo 1	
C	Control positivo 2	
D	Control positivo 3	
E	Paciente 1	
F	Paciente 2	
G	Paciente 3	
H	Paciente 4	

3. Prepare una dilución 1:21 (por ejemplo: 10µL de suero + 200µL de diluyente SAVe Diluent®) del control negativo, del control positivo y de cada suero de paciente. **NOTA: El diluyente SAVe Diluent® sufrirá un cambio de color, lo cual confirma que la muestra se ha combinado con el diluyente.** Para obtener un rendimiento adecuado, es importante que las disoluciones de la muestra se mezclen detenidamente conforme al punto 2b de arriba.
4. Después de determinar el número total de pocillos a procesar, utilice una pipeta multicanal o repetidora para dispensar 50 µL de suspensión de microesferas dentro de cada uno de los pocillos de la placa de filtración.
5. Transfiera 10 µL de cada muestra diluida (1:21) y el control de la placa de disolución a la placa de filtración. Para obtener un rendimiento adecuado, es importante que la disolución de muestra y la suspensión de microesferas se mezclen detenidamente conforme al punto 2b de arriba.
6. Incube la placa a temperatura ambiente (20 - 25°C) durante 30 ± 10 minutos.
7. Después de la incubación, enjuague las microesferas mediante filtrado al vacío usando el tampón de lavado que se suministra diluido en la concentración 1x.
 - a. Coloque la placa de filtración sobre el colector de vacío y extraiga la solución, dejando las microesferas detrás.
 - b. Apague el vacío y añada 200 µL de tampón de lavado.
 - c. Aplique el vacío y extraiga la solución.
 - d. Repita los pasos 7b y 7c para un total de tres enjuagues.
8. A continuación del lavado final, secar suavemente el fondo de la placa y permitir que la placa se seque al aire durante 3-5 minutos antes de continuar con el siguiente paso.
9. Agregue 150 µL de conjugado a cada micropocillo en el mismo orden en que se agregaron las muestras. Para obtener un rendimiento adecuado, es importante que el conjugado y la suspensión de microesferas se mezclen detenidamente conforme al punto 2b de arriba. Mientras mezcla el conjugado tiene la opción de transferir la mezcla a pocillos vacíos de una placa de reacción de poliestireno.
10. Incube la placa a temperatura ambiente (20 - 25°C) durante 30 ± 10 minutos.
11. Ajuste el instrumento **AtheNA Multi-Lyte** para analizar las reacciones. Para ello, seleccione la plantilla ANA-II Plus. Consulte el manual del operador para obtener detalles relacionados con el funcionamiento del instrumento **AtheNA Multi-Lyte**. Los resultados se pueden leer en la placa del filtro o en una placa de reacción. **NOTA: Para obtener un análisis adecuado de la muestra, es importante que el instrumento se instale, calibre y mantenga de acuerdo con las instrucciones del fabricante.** Consulte el manual del instrumento para obtener información sobre la preparación del instrumento antes de leer los resultados del ensayo.
12. Tras finalizar la incubación del conjugado tiene 60 minutos para leer la placa. Tiene la opción de agitar la placa durante unos 15 segundos antes de la lectura. Este paso opcional puede reducir la cantidad de tiempo necesario para leer la placa

Paso	Procedimiento de prueba abreviado
1	Diluya las muestras al 1:21 en diluyente SAVe Diluent®. Mezcle bien.
2	Combine 50 µL de suspensión de microesferas y 10 µL de muestra diluida en un pocillo vacío. Mezcle bien.
3	Incube a temperatura ambiente durante 30 ± 10 minutos.
4	Enjuague las microesferas 3 veces con 200 µL de tampón de lavado (1x).
5	Seque suavemente el fondo de la placa y secar con aire durante 3-5 minutos.
6	Agregue 150 µL de conjugado en cada pocillo. Mezcle bien.
7	Transfíralo a una placa de reacción (opcional).
8	Incube a temperatura ambiente durante 30 ± 10 minutos.
9	Agite la placa (opcional).
10	Lea los resultados en un periodo de 60 minutos.

CONTROL DE CALIDAD

1. Cada vez que se realiza el ensayo, es necesario incluir el control negativo (en el pocillo A1) y los tres controles positivos (en los pocillos B1 hasta el D1).
2. La validez de la tirada se determina mediante la realización de los controles positivos y negativos. Estos criterios se analizan automáticamente con la tecnología *Intra-Well Calibration Technology*.
 - a. El control negativo y los tres controles positivos deben ser todos negativos en la microesfera no específica o de antígeno de control.
 - b. El control negativo debe ser negativo para cada uno y todos los analitos incluidos en la suspensión de microesferas.
 - c. Cada control positivo debe ser positivo para un determinado grupo de analitos que se incluyen en la suspensión de microesferas. Cada control positivo debe tener un resultado cualitativo de ANA positivo. Además del resultado cualitativo, el control positivo debe cumplir con los intervalos predeterminados de actividad. Como un grupo, cada conjunto de microesferas específico de un analito se controla con el grupo de tres controles positivos. Estos intervalos están codificados dentro del CD de calibración.
 - d. Si no se cumple ninguno de los criterios anteriores, toda la tirada se considerará como no válida y se tendrá que repetir.
3. La validez de la muestra se basa en las características de las microesferas y sus interacciones con los sueros de los pacientes. Hay varios parámetros que se supervisan automáticamente con la tecnología *Intra-Well Calibration Technology*. Si se determina que cualquiera de los criterios no cumple las especificaciones, los resultados del paciente se considerarán como no válidos y deberán repetirse. En caso de que esto se produzca, el informe de datos indicará la muestra en particular que se invalidó y el código de solución de problemas.
4. Es posible analizar controles adicionales siguiendo las directrices o los requisitos de las normativas locales, regionales o nacionales, o de las organizaciones acreditadas. Los controles externos deben ser representativos del suero humano normal debido a que el sistema de calibración de **AtheNA Multi-Lyte** de ZEUS se basa parcialmente en las características de la muestra de suero. Si la formulación de la muestra es artificial (no es suero humano), se pueden producir resultados erróneos.
5. Consulte el documento C24 del NCCLS: Statistical Quality Control for Quantitative Measurements (Control de calidad estadístico para determinaciones cuantitativas) para obtener información sobre las prácticas de control de calidad apropiadas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

1. **Cálculos**
 - a. Calibración del ensayo: el sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** ANA-II Plus de ZEUS utiliza la tecnología *Intra-Well Calibration Technology*. La tecnología *Intra-Well Calibration Technology* incluye una curva estándar con múltiples puntos dentro de la suspensión de microesferas. Con la tecnología *Intra-Well Calibration Technology*, cada pocillo del ensayo se calibra de manera interna sin que intervenga ningún usuario. La curva estándar está diseñada para que se ajuste automáticamente basándose en las características únicas del paciente o suero de control. Los valores del calibrador se asignan de acuerdo con los estándares internos de ZEUS, que son específicos del lote y están codificados en el CD de calibración del lote.
 - b. Límite de referencia analitos: Cada analito del sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** ANA-II Plus de ZEUS tiene un límite de referencia asignado. ZEUS determina los límites de referencia para cada lote de sistema de pruebas, y están codificados en el CD de calibración del lote.
 - c. Con la tecnología *Intra-Well Calibration Technology*, todos los cálculos se realizan automáticamente cuando se utiliza el sistema **AtheNA Multi-Lyte** de ZEUS. La tecnología *Intra-Well Calibration Technology* ejecuta un análisis de regresión de las normativas internas, y a continuación ajusta los valores de unidad calculados basándose en una normativa adicional y en las características de la muestra de suero.

2. Interpretaciones

- a. **Interpretación individual del analito ANA:** el sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** ANA-II Plus de ZEUS es capaz de generar hasta nueve resultados de ensayo individuales por cada muestra de paciente probada. Los resultados individuales de la prueba que pueden comunicarse son: SSA, SSB, Sm, RNP, Scl-70, Jo-1, centrómero B, ADNcd e histona. Además de los nueve marcadores mencionados arriba, la suspensión de microesferas **AtheNA Multi-Lyte** ANA-II de ZEUS contiene una preparación de antígeno nuclear derivada de las células HEP-2. Estas microesferas contribuyen al resultado *cualitativo* de la muestra de paciente, pero puede no verse como resultado separado. Los valores unitarios de las muestras para cada analito multiplexado se interpretan de la siguiente manera:

Muestras negativas	< 100
Muestras positivas	> 120
Muestras dudosas	100 - 120

Los valores unitarios que se comunican son IU/mL para ADNcd y AU/mL para el resto de analitos, como indica el listado de resultados del sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** de ZEUS.

- b. **Interpretación cualitativa de ANA:** El sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** ANA-II Plus de ZEUS es capaz de generar una determinación de ANA cualitativa. La determinación de ANA cualitativa se basa en las determinaciones individuales que se enumeran en el apartado 2a de arriba. La interpretación de ANA cualitativa se determina como sigue:
 - i. Las muestras que son positivas (>120) para uno o más de los nueve analitos, o la microesfera de antígeno nuclear HEP-2 (HEP-2NA) se consideran positivas de ANA.
 - ii. Las muestras que son negativas (< 100) para los nueve analitos y para la microesfera HEP-2NA se consideran negativas de ANA.
 - iii. Las muestras que son dudosas (100 - 120) para uno o más analitos (incluyendo la microesfera HEP-2NA), y son negativas para el resto de analitos, se consideran dudosas o al límite de ANA. Las muestras al límite puede repetirse por duplicado o evaluarse usando un procedimiento serológico alternativo para determinar su reactividad a ANA.
 - iv. Es posible que una muestra tenga un resultado cualitativo positivo debido a la reactividad de la microesfera HEP-2NA, y que ahora sea negativa por los otros nueve marcadores del ensayo. Dicha muestra tiene anticuerpos detectables para un antígeno nuclear; no obstante, el anticuerpo no está dirigido contra uno de los nueve analitos *específicos* que se encuentran en la suspensión de microesferas.

LIMITACIONES DE LA PRUEBA

1. El sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** ANA-II Plus de ZEUS es una herramienta para el diagnóstico, pero no es en sí una prueba diagnóstica. Los resultados de la prueba se deben interpretar junto con la evaluación clínica y los resultados de otros procedimientos diagnósticos.
2. Se pueden encontrar resultados positivos de ANA en personas aparentemente sanas. Por lo tanto, es imperativo que los resultados sean interpretados por una autoridad médica que tenga en cuenta la situación clínica del paciente.
3. Los pacientes con LES que están recibiendo tratamiento con esteroides pueden tener resultados de prueba negativos.
4. Muchos fármacos comúnmente recetados pueden inducir ANA.
5. Las muestras hemolíticas, ictericas o lipémicas pueden interferir en el resultado de este ensayo. Además, las muestras con concentraciones de IgC anormales pueden interferir en el resultado de este ensayo. Debe evitarse el uso de estos tipos de muestras.

RESULTADOS ESPERADOS

La investigación clínica del sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte** ANA-II Plus de ZEUS incluye en total de 546 muestras de tres categorías principales: donantes de sangre normales (n=161), muestras clasificadas por su reactividad a autoanticuerpos (n=350) y muestras de pacientes/clínicas (n=35) de individuos que estaban visitando a un médico a causa de un trastorno reumático. Las muestras clínicas incluyeron cinco de cada una de los siguientes estados de enfermedad: síndrome de CREST, lupus provocado por medicamentos, enfermedad mixta del tejido conectivo, miositis, esclerodermia, lupus sistémico y síndrome de Sjögren. El porcentaje positivo, negativo y dudoso de cada ensayo por cada grupo de muestras aparece en la Tabla 1 que aparece a continuación.

Tabla 1: Resultado esperado

Número de resultados de muestras positivas, negativas y dudosas por grupo									
	Normales (n=161)			Clasificadas (n=350)			Clínicas (n=35)		
	Positivo	Negativo	Dudoso	Positivo	Negativo	Dudoso	Positivo	Negativo	Dudoso
SSA	2	158	1	149	196	5	12	22	1
SSB	0	160	1	83	263	4	6	29	0
Sm	0	161	0	56	290	4	4	31	0
RNP	2	158	1	83	264	3	7	28	0
Sci-70	1	160	0	42	305	3	3	31	1
Jo-1	0	160	1	45	304	1	5	30	0
ADNcd	0	161	0	48	297	5	1	34	0
Centrómero	2	158	1	33	313	4	4	31	0
Histona	0	161	0	43	301	6	0	34	1
ANA	7	151	3	281	65	4	28	5	2
Porcentaje del resultado del tamaño de la población									
	% positivo	% negativo	% dudoso	% positivo	% negativo	% dudoso	% positivo	% negativo	% dudoso
SSA	1,2	98,1	0,6	42,6	56,0	1,4	34,3	62,9	2,9
SSB	0,0	99,4	0,6	23,7	75,1	1,1	17,1	82,9	0,0
Sm	0,0	100,00	0,0	16,0	82,9	1,1	11,4	88,6	0,0
RNP	1,2	98,1	0,6	23,7	75,4	0,9	20,0	80,0	0,0
Sci-70	0,6	99,4	0,0	12,0	87,1	0,9	8,6	88,6	2,9
Jo-1	0,0	99,4	0,6	12,9	86,9	0,3	14,3	85,7	0,0
ADNcd	0,0	100,0	0,0	13,7	84,9	1,4	2,9	97,1	0,0
Centrómero	1,2	98,1	0,6	9,4	89,4	1,1	11,4	88,6	0,0
Histona	0,0	100,00	0,0	12,3	86,0	1,7	0,0	97,1	2,9
ANA	4,3	93,8	1,9	80,3	18,6	1,1	80,0	14,3	5,7

CARACTERÍSTICAS DE COMPORTAMIENTO

1. Estudio comparativo

Se llevó a cabo un estudio comparativo para demostrar las características de funcionamiento del sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte ANA-II Plus** de ZEUS en comparación con el sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte ANA** de ZEUS. Se probaron un total de 546 muestras. Los tipos y números de muestras probados se describen en la Tabla 2 que aparece a continuación.

Tabla 2: Tipos de muestras incluidas en el estudio comparativo

Tipo	Cantidad	Descripción
Donante de sangre normal	161	Muestras aleatorias adquiridas en varios proveedores comerciales.
Muestras clasificadas	350	Estas muestras se adquirieron en numerosos proveedores comerciales. Previamente se habían clasificado por su reactividad (o no reactividad) frente autoanticuerpos utilizando un gran número de metodologías diferentes. Es más que probable que las muestras positivas se adquirieran de pacientes enfermos.
Muestras clínicas	5 – Síndrome de CREST 5 – Lupus provocado por medicamentos 5 – EMTC 5 – Miositis 5 – LES 5 – Esclerodermia 5 – Síndrome de Sjögren	Estas muestras se adquirieron en un proveedor comercial como muestras de pacientes diagnosticados según las categorías que se enumeran.

Cada una de las muestras arriba mencionadas se probaron en el sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte ANA-II Plus** de ZEUS y en el sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte ANA** de ZEUS. El resultado de este estudio comparativo se usó para calcular la sensibilidad relativa, la especificidad relativa y la concordancia relativa de cada ensayo del sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte ANA-II Plus** de ZEUS en comparación con el ensayo de referencia. Los resultados del estudio comparativo se resumen en la Tabla 3 que se muestra a continuación:

Tabla 3: Funcionamiento del sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte ANA-II Plus** de ZEUS en comparación con el sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte ANA** de ZEUS.

Marcador	Sensibilidad relativa (%)	Especificidad relativa (%)	Concordancia relativa (%)
SSA	100	93,3	94,9
SSB	100	95,2	95,7
Sm	83,3	98,7	97,0
RNP	98,1	93,7	94,2
Sci-70	95,2	98,8	98,5
Jo-1	100	99,4	99,4
ADNcd	88,6	97,8	97,2
Centrómero	96,2	97,5	97,4
Histona	95,8	96,9	96,8
ANA	99,6	88,3	94,3

Especificidad y sensibilidad clínica del sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte ANA-II Plus** de ZEUS

La especificidad clínica del sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte ANA-II Plus** de ZEUS se evaluó usando 161 donantes de sangre normales, considerando que tal grupo no debería tener enfermedades autoinmunes. De las 161 muestras probadas, siete fueron positivas en uno o más marcadores, tres fueron equívocas en uno o más marcadores (y no positivas para ningún marcador) y 151 fueron negativas para los 10 resultados del ensayo. Para los nueve sistemas de pruebas individuales, la especificidad de las pruebas **AtheNA Multi-Lyte ANA-II Plus** de ZEUS osciló entre el 98,1 % y el 100 %. Especificidad clínica de la parte de ANA del sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte ANA-II Plus** de ZEUS fue del 93,8 %. La sensibilidad clínica del sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte ANA-II Plus** de ZEUS se evaluó usando 35 muestras de pacientes (diagnosticados) clasificadas clínicamente. De las 35 muestras probadas, 28 (80 %) fueron positivas en uno o más marcadores del sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte ANA-II Plus**. En la Tabla 4 siguiente se presenta el resultado de las 35 muestras.

Tabla 4: Resultados de las 35 muestras clínicas

Enfermedad	Resultado ANA	SSA	SSB	Sm	RNP	Scl-70	JO-1	ADN	Cent	Histona
Crest1	Positivo	6	8	1	9	7	6	24	270	9
Crest2	Positivo	25	3	5	9	4	8	15	394	7
Crest3	Negativo	8	3	1	3	2	6	12	4	4
Crest4	Positivo	7	3	3	4	3	6	11	352	6
Crest5	Positivo	8	2	14	13	6	5	15	511	9
DIL1	Negativo	8	3	4	13	10	20	44	13	15
DIL2	Dudoso	110	10	4	13	12	23	30	12	26
DIL3	Positivo	971	189	5	7	10	8	16	9	18
DIL4	Negativo	10	10	89	50	9	28	30	19	57
DIL5	Positivo	670	5	3	6	3	5	31	5	31
EMTC 1	Positivo	2	3	24	853	8	8	28	10	8
EMTC 2	Positivo	573	443	49	329	9	25	40	20	15
EMTC 3	Positivo	11	6	14	188	6	12	26	12	15
EMTC 4	Positivo	7	4	164	915	5	9	20	10	9
EMTC 5	Positivo	178	3	51	69	10	7	177	10	111
Miositis 1	Positivo	6	35	2	11	5	772	19	11	10
Miositis 2	Positivo	10	11	4	60	9	1024	22	31	20
Miositis 3	Positivo	6	2	4	5	7	1293	18	7	6
Miositis 4	Positivo	18	3	10	9	9	1048	18	3	7
Miositis 5	Positivo	6	4	4	6	5	946	13	8	6
Esclerodermia 1	Dudoso	3	3	3	2	103	5	17	7	5
Esclerodermia 2	Positivo	8	2	2	4	145	5	20	9	8
Esclerodermia 3	Positivo	59	5	2	3	152	6	13	8	5
Esclerodermia 4	Negativo	3	2	3	4	88	3	12	6	6
Esclerodermia 5	Positivo	4	2	4	65	549	14	41	28	17
Lupus 1	Positivo	504	39	301	432	4	4	21	5	3
Lupus 2	Positivo	94	4	284	216	18	3	51	4	29
Lupus 3	Positivo	1066	44	9	657	4	5	36	11	6
Lupus 4	Positivo	513	2	275	23	11	5	12	3	20
Lupus 5	Negativo	5	3	22	23	10	6	12	3	9
Sjögrens 1	Positivo	362	713	1	7	3	8	17	11	10
Sjögrens 2	Positivo	128	186	2	1	6	21	10	3	7
Sjögrens 3	Positivo	1158	786	2	13	5	12	18	12	5
Sjögrens 4	Positivo	861	732	5	8	11	8	17	9	6
Sjögrens 5	Positivo	783	9	4	10	8	25	17	16	14

2. Reproducibilidad

Se llevó a cabo un estudio de precisión para evaluar la precisión del sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte ANA-II Plus** de ZEUS. El estudio se llevó a cabo de la siguiente manera: Se probaron ocho muestras. Cada una de las ocho muestras se diluyeron dos veces y cada dilución se hizo en placa cuatro veces para obtener un total de ocho réplicas de cada muestra. Este protocolo se realizó tres veces, obteniendo 24 resultados de cada una de las ocho muestras. Los 24 resultados de cada muestra se usaron para calcular el resultado medio, la desviación estándar y el CV porcentual. Los resultados de este estudio se ilustran a continuación en la Tabla 5.

Tabla 5: Precisión

ID de la muestra	Todas las tandas	SSA	SSB	Sm	RNP	Scl-70	Jo-1	ADNcd	CentB	Histona
Muestra 1	VI	8	4	3	7	4	9	17	10	8
	DE	1,87	0,88	0,97	1,28	0,90	1,85	2,61	1,71	1,35
	%CV	22,7	22,1	28,7	17,3	21,8	21,3	15,4	17,8	16,5
Muestra 2	VI	903	726	555	190	9	10	20	11	14
	DE	72,33	61,61	55,10	28,25	1,75	1,83	4,39	2,07	2,34
	%CV	8,0	8,5	9,9	14,9	19,7	18,0	21,8	18,6	16,2
Muestra 3	VI	1424	494	35	71	631	1525	663	566	716
	DE	102,87	49,53	5,93	10,02	48,35	113,01	107,69	59,80	75,21
	%CV	7,2	10,0	16,8	14,2	7,7	7,4	16,3	10,6	10,5
Muestra 4	VI	9	5	29	863	10	20	79	30	16
	DE	4,01	1,18	7,06	146,16	2,98	5,51	21,75	5,28	3,99
	%CV	42,8	23,6	24,8	16,9	31,3	27,4	27,6	17,6	25,3
Muestra 5	VI	9	8	3	6	4	8	13	6	7
	DE	2,06	1,63	0,83	1,25	1,01	2,51	2,74	1,28	1,84
	%CV	22,7	21,3	29,8	22,6	26,3	30,9	21,0	21,7	26,3
Muestra 6	VI	861	14	14	212	598	1505	78	784	26
	DE	114,06	4,62	4,52	47,89	72,60	178,50	15,03	106,30	6,52
	%CV	13,2	32,6	31,4	22,6	12,1	11,9	19,2	13,6	25,4
Muestra 7	VI	768	16	29	732	8	1551	57	22	14
	DE	58,79	3,21	3,97	83,25	1,67	120,45	9,71	4,02	2,21
	%CV	7,7	20,2	13,7	11,4	20,6	7,8	17,0	18,1	16,3
Muestra 8	VI	1441	687	303	84	37	19	223	19	525
	DE	79,42	52,09	35,08	13,28	5,96	3,22	35,94	3,40	46,24
	%CV	5,5	7,6	11,6	15,8	15,9	16,9	16,1	18,2	8,8

3. Sustancias interferentes

El sistema de pruebas **AtheNA Multi-Lyte ANA-II Plus** de ZEUS se evaluó por si presentaba interferencia potencial de componentes del suero. Para este estudio, se evaluaron un total de 20 muestras tanto con **AtheNA Multi-Lyte** de ZEUS como con ELISA. Estas 20 muestras contenían, o bien, niveles anormales de triglicéridos (n=5), niveles de IgG por encima de lo normal (n=5), concentración de bilirubina por encima de lo normal (n=5), o bien, niveles de hemólisis por encima de lo normal (n=5). De las 20 muestras probadas, una de las 20 tuvo un resultado positivo.

Tabla 6: Resumen de las sustancias interferentes

ID de la muestra	Resultado cualitativo	SSA	SSB	Sm	RNP	Scl-70	Jo-1	ADNcd	CentB	Histona
Triglicérido 1	Negativo	10	5	7	10	31	14	22	8	21
Triglicérido 2	Negativo	17	6	5	8	14	15	23	9	15
Triglicérido 3	Negativo	10	4	7	10	16	16	18	8	18
Triglicérido 4	Negativo	19	8	6	13	14	17	21	10	16
Triglicérido 5	Negativo	16	5	7	10	21	15	19	8	20
Hemoglobina 1	Negativo	20	8	8	24	79	30	18	15	26
Hemoglobina 2	Negativo	20	9	9	17	23	25	25	11	25
Hemoglobina 3	Negativo	16	7	7	15	75	21	19	7	24
Hemoglobina 4	Negativo	42	54	20	30	25	46	66	18	82
Hemoglobina 5	Negativo	10	6	7	10	13	17	24	8	12
IgG+ 1	Negativo	19	22	8	36	46	95	47	21	27
IgG+ 2	Negativo	14	11	6	35	18	45	40	17	16
IgG+ 3	Negativo	13	11	7	21	16	20	38	18	17
IgG+ 4	Positivo	113	11	7	15	175	20	46	19	18
IgG+ 5	Negativo	30	9	5	15	40	19	54	19	16
Bilirubina 1	Negativo	16	5	8	19	57	18	34	18	21
Bilirubina 2	Negativo	10	6	15	33	81	26	27	19	26
Bilirubina 3	Negativo	10	5	5	8	19	18	16	8	10
Bilirubina 4	Negativo	9	5	4	5	13	12	16	10	10
Bilirubina 5	Negativo	16	6	6	10	17	18	24	18	15

REFERENCIAS

1. U.S. Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration: Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens, Final Rule. Fed. Register 56:64175-64182, 1991.
2. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens. NCCLS Document H18-A, Vol. 10, No. 12, Approved Guideline, 1990.
3. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. 2nd edition. Approved Standard (1984). Published by National Committee for clinical Laboratory Standards.
4. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guidelines – 4th Edition (2010). CLSI Document GP44-A4 (ISBN 1-56238-724-3). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, PA 19087.



ZEUS Scientific
 200 Evans Way, Branchburg, New Jersey, 08876, EE. UU.
 Llamada gratuita (EE. UU.): 1-800-286-2111, opción 2
 Internacional: +1 908-526-3744
 Fax: +1 908-526-2058
 Página Web: www.zeusscientific.com
AtheNA Multi-Lyte y **SAVE Diluent** son marcas registradas de ZEUS Scientific

Para consultas al Servicio de atención al cliente en EE.UU.,
 contacte con su distribuidor local.
 Para consultas al Soporte técnico, contacte con ZEUS Scientific,
 llame de forma gratuita o escriba a support@zeusscientific.com.
 Para consultas al Servicio de atención al cliente y al Soporte
 técnico desde fuera de EE.UU., contacte con su distribuidor local.
 © 2021 ZEUS Scientific Todos los derechos reservados.

